

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk simplisia daun tempuyung yang diperoleh dari UPT Materia Medika Batu dan diekstraksi di Laboratorium Sintesis Universitas Muhammadiyah Malang. Bahan pembawa yang digunakan dalam penelitian ini adalah Laktosa (Custom Ingredients Group), Avicel PH 101 (Aic), HPMC 2910 5 cps (Wuhan Senwayer Century Chemical Co., Ltd), Primogel (Fagron), dan Magnesium Stearat (Faci Asia Pacific Pie Ltd) yang diperoleh dari CV. Asian Chemical Semarang dengan derajat farmasi.

4.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat pembuat ekstrak Maserator bejana toples 10 L, Corong Buchner, Rotary Evaporator, alat pencetak tablet hidrolik (Perkin Elmer *Hydraulische Press*), ayakan granul mesh 12 dan 14, alat uji kekerasan (*Hardness Tester*), alat uji kerapuhan (*Friability Tester*), alat uji waktu hancur (*Disintegrating Tester 2 Cavity*), alat uji aliran dan sudut diam (corong standar, *stopwatch* dan *Set of Repose Angels*), alat uji kandungan lengas (Mettler Toledo HB43-S), alat uji kadar *finer* (*Shieve Shaker Pharmaco S04-WT*), alat kompresibilitas (*Tap Density*), alat pengering (*Circulating air drying oven*), neraca analitik (Mettler Toledo PL 3002 dan Ohaus).

4.3 Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan membandingkan pengaruh kadar HPMC 2910 5 cps sebagai bahan pengikat terhadap mutu fisik tablet ekstrak daun tempuyung meliputi kekerasan, kerapuhan dan waktu hancur tablet. Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan bertempat di Laboratorium Formulasi Sediaan Farmasi dan Laboratorium Sintesis Universitas Muhammadiyah Malang.

Populasi pada penelitian ini adalah tablet ekstrak daun tempuyung yang dibuat sebanyak 2 bets masing-masing sejumlah 100 tablet, sedangkan sampel

diambil secara acak sesuai dengan jumlah tablet yang diuji. Variabel bebas dari penelitian ini adalah kadar HPMC 2910 5 cps pada tablet ekstrak tanaman tempuyung. Penelitian ini dilakukan dengan membuat tiga macam formula sediaan tablet dengan variasi kadar pengikat 1%, 2%, 3% dan satu formula sebagai kontrol tanpa tambahan bahan pengikat menggunakan metode granulasi basah. Granul ekstrak daun tempuyung yang dibutuhkan yaitu 150 gram, berdasarkan perhitungan kebutuhan uji mutu fisik granul dan tablet.

Rancangan formula sediaan tablet ekstrak daun tempuyung dapat dilihat pada tabel IV.1.

Tabel IV. 1 Rancangan Formula Tablet Ekstrak Daun Tempuyung

Komposisi	Fungsi	Formula (mg)			
		F1	F2	F3	F4
Ekstrak daun tempuyung	Bahan aktif	100	100	100	100
Laktosa	Pengisi	432	425	418	411
Avicel PH 101 (20%)	Pengisi	140	140	140	140
HPMC 2910 5 cps	Pengikat	-	7	14	21
Primogel (3%)	Penghancur	21	21	21	21
Mg Stearat (1%)	Lubrikan	7	7	7	7
Bobot tablet		700	700	700	700

Keterangan :

- F1 = formula tanpa bahan pengikat (kontrol)
- F2 = formula dengan kadar HPMC 2910 5 cps 1%
- F3 = formula dengan kadar HPMC 2910 5 cps 2%
- F4 = formula dengan kadar HPMC 2910 5 cps 3%

Rancangan spesifikasi produk sediaan tablet ekstrak daun tempuyung dapat dilihat pada tabel IV.2.

Tabel IV. 2 Rancangan spesifikasi produk sediaan tablet ekstrak daun tempuyung

Uji Evaluasi Persyaratan	
Dosis Obat	100 mg
Diameter Tablet	13 mm
Bobot	700 mg
Kekerasan	4-8 kg
Kerapuhan	< 1 %
Waktu hancur	< 15 menit

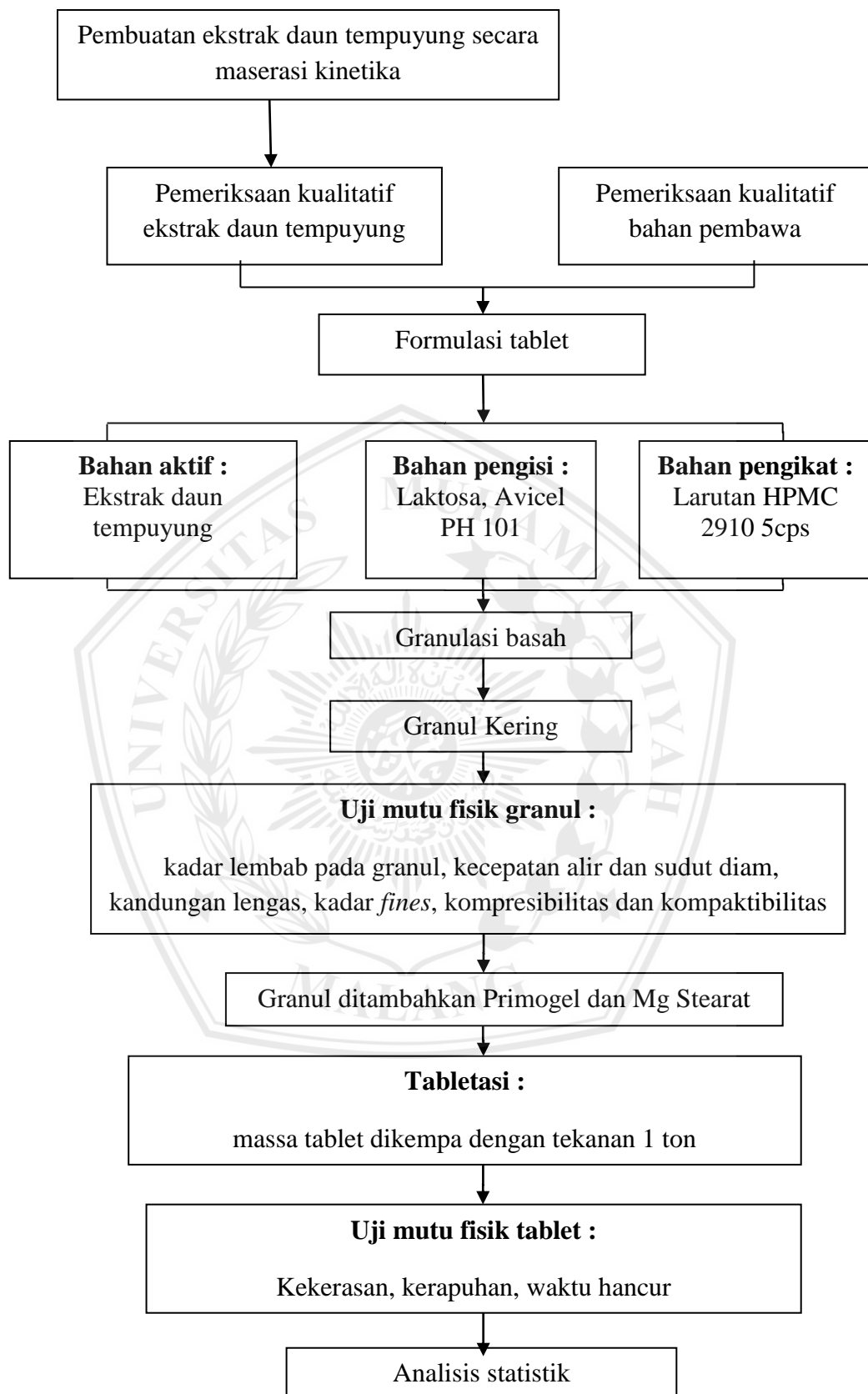
4.4 Cara Kerja

Pada proses penelitian ini diawali dengan pembuatan ekstrak dari serbuk simplisia daun tempuyung dengan menggunakan metode maserasi kinetika, kemudian maserat disaring dengan saringan buchner, filtrat yang didapat diuapkan dengan rotavapor, didapat ekstrak kental, selanjutnya diuapkan di atas penangas air untuk menghilangkan sisa pelarut, selanjutnya dihitung kadar rendemennya. Pemeriksaan kualitatif ekstrak daun tempuyung dengan metode reaksi warna dan KLT. Pemeriksaan Kualitatif bahan pembawa tablet laktosa, avicel PH 101, HPMC 2910 5 cps, primogel, dan magnesium stearat dengan menggunakan spektrofotometri inframerah.

Pada pembuatan tablet ekstrak daun tempuyung digunakan metode granulasi basah, ekstrak daun tempuyung, laktosa, avicel PH 101, ditimbang, masukkan didalam mortir, kemudian gerus sampai homogen. Selanjutnya dibuat larutan HPMC 2910 5 cps dengan cara melarutkan bersama air sampai larut. Larutan HPMC 2910 5 cps dimasukkan ke dalam campuran serbuk sedikit demi sedikit digerus sampai homogen dan terbentuk granul basah yang kalis. Setelah terbentuk massa kalis, kemudian diayak dengan pengayak granul ukuran mesh 12 sampai terbentuk granul. Selanjutnya granul dikeringkan dalam lemari pengering sampai diperoleh kadar kelembaban 1-2%. Kemudian granul diayak lagi dengan pengayak granul mesh 14 untuk menyeragamkan ukuran partikel. Selanjutnya, granul yang diperoleh diuji mutu fisik granul yang meliputi: kadar kelembapan granul, kecepatan alir, sudut diam, kompresibilitas dan kompaktibilitas. Setelah itu ditambahkan fase eksternal yaitu primogel sebagai penghancur dicampur selama 10 menit dan ditambahkan magnesium stearat sebagai lubrikan dicampur selama 5 menit.

Pembuatan tablet dilakukan dengan alat kempa hidrolik, kemudian tablet dikempa satu persatu dengan cara menimbang massa kempa sebanyak 700 mg per tablet dengan diameter tablet 13 mm. selanjutnya dilakukan uji mutu fisik tablet yang meliputi kerapuhan, kekerasan, dan waktu hancur tablet. Persyaratan kekerasan tablet 4-8 kg, kerapuhan tablet kurang dari 1% dan waktu hancur tablet kurang dari 15 menit. Bagan alur kerja penelitian dapat dilihat pada gambar 4.1





Gambar 4. 1 Skema Alur Penelitian

4.4.1 Pembuatan dan Pemeriksaan Ekstrak Daun Tempuyung

4.4.1.1 Pembuatan Ekstrak Daun Tempuyung

Serbuk simplisia daun tempuyung diekstraksi dengan metode maserasi kinetika dengan cara : ditimbang serbuk simplisia sebanyak 1 kg direndam menggunakan etanol 96% masukkan dalam toples kaca 10 L. Serbuk yang telah ditambahkan dengan pelarut diaduk hingga semua serbuk simplisia terbasahi, setelah itu didiamkan selama 24 jam. Hasil rendaman disaring menggunakan corong buchner. Kemudian residu yang didapat direndam kembali dengan etanol 96%, diaduk hingga semua serbuk simplisia terbasahi dan didiamkan selama 24 jam. Hasil dari rendaman tersebut disaring menggunakan corong buchner. Selanjutnya residu yang didapat direndam kembali untuk ketiga kalinya dengan menggunakan pelarut etanol 96%, diaduk hingga semua serbuk simplisia terbasahi dan didiamkan selama 24 jam. Hasil dari rendaman disaring menggunakan corong buchner. Semua tampungan filtrat kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotavaporator* pada suhu 40°C – 50°C (337 mBar) selama 1,5 jam. Ekstrak yang didapatkan kemudian di uapkan sampai diperoleh ekstrak dengan konsistensi kental dan bebas pelarut.

4.4.1.2 Pemeriksaan Kualitatif Ekstrak Daun Tempuyung

Pemeriksaan kualitatif untuk mengetahui adanya senyawa Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun tempuyung dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Uji reaksi warna Wilstater.

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemeriksaan kualitatif ekstrak daun tempuyung dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis untuk membuktikan adanya senyawa flavonoid. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak daun salam ditotolkan pada lempeng silica gel GF 254, lalu lempeng dieluasi dalam bejana berisi diklorometana : kloroform (1:1). Hasil pengamatan dilihat dengan sinar UV λ 254 nm dan λ 365 nm kemudian disemprot dengan penampak noda pereaksi sitrat borat, uap ammonia atau asam sulfat 10%. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya noda berwarna kuning intensif. Noda kuning yang ditimbulkan oleh uap ammonia akan hilang secara perlahan ketika ammonianya menguap,

sedangkan noda kuning yang ditimbulkan oleh pereaksi sitrat borat bersifat permanen.

Selanjutnya identifikasi dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) berdasarkan harga R_f , dimana harga R_f didefinisikan sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak noda}}{\text{Jarak tempuh eluen}}$$

Uji Reaksi Warna Wilstater

Uji reaksi warna Wilstater dapat dilakukan dengan ditimbang sebanyak 0,3 gram ekstrak daun tempuyung, dimasukkan kedalam tabung. Kemudian ditambahkan n-heksan dikocok berkali-kali sampai n-heksan tidak berwarna. Diambil residunya kemudian dilarutkan kedalam etanol 20 ml. Ditambahkan HCL pekat 2N 0,5 ml dan 4 potong Magnesium . Adanya flavonoid ditunjukkan dengan adanya warna merah.

4.4.2 Pemeriksaan Kualitatif Bahan Pembawa

Pemeriksaan kualitatif bahan pembawa dilakukan dengan analisis spektra IR dengan pembandingan data spektra IR dari pustaka.

4.4.2.1 Pemeriksaan Kualitatif Laktosa

Pemeriksaan kualitatif laktosa dilakukan dengan metode spektrofotometri inframerah, prosedur dilakukan dengan cara menggerus 1 mg laktosa dengan 300 mg serbuk KBr kering kemudian dikompresi dengan penekan hidrolik yang dilengkapi dengan alat penarik uap agar diperoleh lempeng tipis yang tembus cahaya. Spektra inframerah yang diperoleh dari sampel dibandingkan dengan pustaka.

4.4.2.2 Pemeriksaan Kualitatif Avicel PH 101

Pemeriksaan spektra inframerah Avicel PH 101 dibuat dengan metode KBr seperti pada prosedur 4.4.2.1

4.4.2.3 Pemeriksaan Kualitatif HPMC 2910 5cps

Pemeriksaan spektra inframerah HPMC 2910 5cps dibuat dengan metode KBr seperti pada prosedur 4.4.2.1

4.4.2.4 Pemeriksaan Kualitatif Primogel

Pemeriksaan spektra inframerah Primogel dibuat dengan metode KBr seperti pada prosedur 4.4.2.1

4.4.2.5 Pemeriksaan Kualitatif Mg Stearat

Pemeriksaan spektra inframerah Magnesium Stearat dibuat dengan metode KBr seperti pada prosedur 4.4.2.1

4.4.3 Pemeriksaan Mutu Fisik Granul

Sebelum menjadi tablet, perlu dilakukan pemeriksaan mutu fisik granul meliputi kecepatan alir dan sudut diam, kadar *fines*, kompresibilitas, dan kompaktibilitas.

4.4.3.1 Kecepatan Alir dan Sudut Diam

Prosedur uji kecepatan alir dan sudut diam dilakukan dengan menimbang granul sebanyak 50 gram dimasukkan kedalam corong dengan menutup ujung corong dan kemudian disiapkan stopwatch untuk menghitung kecepatan alirnya. Penutup ujung corong dibuka dan dibiarkan mengalir keluar, dilakukan pencatatan terhadap diameter, tinggi, dan waktu mengalirnya granul serta kecepatan alirnya (Musa *et al.*, 2011). Kecepatan alir granul yang baik adalah jika lebih besar dari 10 g/detik, dengan sudut diam antara 24-40° (Agoes, G., 2012). Sudut diam granul dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut :

$$\tan \theta = \frac{h}{r}$$

Keterangan: h = tinggi kerucut

r = jari-jari kerucut

4.4.3.2 Kandungan Lengas

Kandungan lengas dilakukan dengan menggunakan alat *Mettler Toledo HB43-S* dengan cara, alat disiapkan dengan menekan tanda ON, kemudian alat ditara terlebih dahulu, selanjutnya granul sebanyak 2,6-3 gram diletakkan di pan dan diratakan, tekan tombol start. Kandungan lengas granul akan terbaca dan akan berhenti ditandai dengan lampu dari alat *Mettler Toledo HB43-S* mati. Persyaratan kandungan lengas granul kurang dari 2% (Luo *et al.*, 2012).

4.4.3.3 Kadar *Fines*

Penentuan kadar *fines* menggunakan alat *shieve shaker*. Pengujian dilakukan dengan menimbang ayakan mesh 120 dan pan. Susun ayakan mesh 120 dan pan, masukkan granul sebanyak 50 g kemudian tutup, letakkan pada alat *shieve shaker* lalu tekan tombol “ON”. Pengujian dilakukan selama 10 menit. Setelah selesai, timbang masing-masing ayakan dan hitung selisih antara ayakan berisi granul dan ayakan kosong. Jumlah *fines* tidak lebih dari 20%.

4.4.3.4 Kompresibilitas

Prosedur pada kompresibilitas, disiapkan granul dalam gelas ukur tertutup volume 100 ml, granul yang digunakan harus sama dengan atau lebih dari 60% dari kapasitas wadah, maka digunakan 60 ml granul dalam gelas ukur. Kemudian diberi ketukan dihitung volume pada volume awal (V_0), volume 10 ketukan (V_{10}), volume 500 ketukan (V_{500}), dan volume 1250 (V_{1250}), kemudian dilihat setiap perubahan volume. Jika perbedaan antara V_{500} dan V_{1250} kurang dari 2 ml, maka V_{1250} adalah volume pemampatan (Depkes RI, 2014).

Indeks kompresibilitas atau Indeks Carr's dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Indeks Kompresibilitas} = \frac{p_{\text{tab}} - p_{\text{bulk}}}{p_{\text{tab}}} \times 100\%$$

Keterangan : p_{tab} = BJ Granul Awal

p_{bulk} = BJ Granul Akhir

4.4.3.5 Kompaktibilitas

Penentuan kompaktibilitas dilakukan dengan menggunakan kempa hidrolik dengan prosedur ditimbang granul sebanyak 10 g dan magnesium stearat 50 mg. Campur granul dengan magnesium stearat selama 5 menit ditimbang sebanyak 700 mg per tablet, lalu masukkan kedalam kempa hidrolik dan dikompresi dengan tekanan 1 ton dan 2 ton.

4.4.4 Pemeriksaan Mutu Fisik Tablet

Pemeriksaan mutu fisik tablet yang dilakukan adalah kekerasan, kerapuhan, dan waktu hancur tablet.

4.4.4.1 Pemeriksaan Kekerasan Tablet

Alat yang digunakan pada uji kekerasan tablet adalah Hardness Tester. Uji ini dilakukan dengan cara memilih 10 tablet dengan cara diacak dari masing-masing formula. Setiap tablet dipasang pada *Monsanto* dengan posisi vertikal kemudian diputar bagian penenkannya dan diamati skala saat tablet mulai retak. Kekerasan tablet dinyatakan dalam satuan kilogram dengan rentang 4-8 kg. (Reddy *et al.*, 2014)

4.4.4.2 Pemeriksaan Kerapuhan Tablet

Pemeriksaan kerapuhan tablet dilakukan dengan menghitung hilangnya berat tablet menggunakan alat *friability tester* dan dilakukan sebanyak 3 kali. Untuk tablet yang memiliki bobot lebih dari 650 mg dilakukan prosedur dengan cara ditimbang 10 tablet yang akan diuji kerapuhannya, selanjutnya seluruh tablet tersebut dimasukkan ke dalam alat uji kerapuhan, nyalakan alat dengan kecepatan 25 rpm dengan 100 kali putaran. Persyaratn kerapuhan tablet adalah kurang dari 1% (USP, 2012). Presentase kerapuhan tablet dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\% \text{ Friabilitas} = \frac{\text{Berat tablet awal} - \text{berat tablet akhir}}{\text{Berat tablet awal}} \times 100$$

Keterangan : W1 = berat tablet awal
W2 = berat tablet akhir

4.4.4.3 Pemeriksaan Waktu Hancur Tablet

Waktu hancur tablet menggunakan alat uji disintegrasi atau *Disintegrating Tester 2 Cavity* dan dilakukan sebanyak 3 kali. Masukkan 1 tablet pada masing-masing 6 tabung dari keranjang, jika dinyatakan masukkan 1 cakram pada tiap tabung. Jalankan alat, gunakan air bersuhu $37^{\circ} \pm 2^{\circ}$ sebagai media atau gelas piala yang berisi 900 ml air kecuali dinyatakan menggunakan cairan lain dalam masing-masing monografi. Pada akhir batas waktu seperti tertera pada monografi, angkat keranjang dan amati semua tablet. Semua tablet harus hancur sempurna, bila 1

atau 2 tablet tidak hancur sempurna, ulangi pengujian dengan 12 tablet lainnya. Tidak kurang 16 dari 18 tablet yang diuji harus sempurna (Departemen Kesehatan RI, 2014). Waktu hancur untuk tablet tidak bersalut adalah tidak lebih dari 15 menit.

4.4.5 Analisis Statistik

Hasil penentuan pengaruh kadar HPMC 2910 5 cps terhadap mutu fisik tablet meliputi kekerasan tablet, kerapuhan tablet dan waktu hancur tablet ekstrak daun tempuyung dianalisis menggunakan one way anova (*Analysis of Variant*) dengan program SPSS 18 (*Statistical Product and Service Solutions*) pada tingkat kepercayaan 95%. Jika diperoleh hasil nilai F hitung lebih besar dari pada F tabel, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antara formula. Selanjutnya perhitungan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD (*Honestly Significant Difference Test*) untuk mengetahui formula mana yang memiliki perbedaan antara formula.

